

VERIFICAÇÃO DA SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE PARA DETECÇÃO DE *SALMONELLA* SPP PELO MÉTODO MINI-VIDAS BIOMÉRIEUX

VITOR ROGÉRIO SOARES, CAROLINE REGAZINI DE SÁ SOARES

1. INTRODUÇÃO

A análise qualitativa e quantitativa de microrganismos presentes nos alimentos é fundamental para conhecer em quais condições de higiene pela qual esse alimento foi submetido no momento de seu preparo, os riscos que este alimento pode oferecer a saúde do consumidor e se o alimento terá ou não a vida útil pretendida. (1)

Salmonella spp é, certamente o microrganismo patogênico de maior relevância em alimentos. Segunda a Organização Mundial da Saúde, a salmonelose figura como uma das mais importantes enfermidades transmitidas por alimentos seja pelo número de pessoas afetadas, complicações seqüelas da doença, quantidade e volume de alimentícios produtos contaminados, seja pela perda econômica com tratamento médico e hospitalar ou reprocessamento e destruição de alimentos. (2)

Inúmeros métodos laboratoriais de análises podem ser utilizados na investigação da presença ou ausência de microrganismos patogênicos. Atualmente esses métodos são comumente divididos em “convencionais” e rápidos. (1)

Os métodos convencionais são assim denominados, pois foram desenvolvidos a mis tempo e são oficialmente utilizados e aceitos nos laboratórios brasileiros assim como em outros países. Além disso, esses métodos estão descritos em publicações internacionalmente aceitas tais como Association of Official Analytical Chemists International (AOAC Intenational), Compendium of methods dor microbiological examination of foods, United States Foods and Drugs Administration (FDA), International Organization Food Standardization (ISO).

Os métodos rápidos sugiram a partir da década de 70, como conseqüência da necessidade de abreviar o tempo necessário para obtenção de resultados analíticos, e

melhorar a produtividade laboratorial. Além desses objetivos esses métodos visam simplificar o trabalho e reduzir custos, além disso, aliado a isso pode haver vantagens como maior sensibilidade e especificidade que os métodos convencionais. (1)

Cada vez mais há necessidade de identificar microorganismos patogênicos com rapidez e segurança e essa tem sido a preocupação de várias indústrias alimentícias, com isso os meios rápidos e automatizados vêm sendo reconhecidos e aprovados para realização de ensaios qualitativos para uma gama de microorganismo patogênico.

Dentre as técnicas imunológicas mais utilizadas em microbiologia alimentar encontra-se a técnica imunoenzimática. Os sistemas de rápida detecção de microrganismos patogênicos multiparamétricos de imunoensaio, são, na maioria, miniaturizados, contendo pequenos volumes de meio de cultura e podem ser também computadorizados e parcial ou totalmente automatizados. Além das vantagens evidentes em relação à simplicidade e facilidade na rotina laboratorial de análises, esses sistemas são fabricados por empresas idôneas e são submetidos a rigorosos testes de reprodutibilidade garantindo sua confiabilidade. A desvantagem é que apesar do reconhecimento internacional (AOAC), estes métodos quando utilizados na pesquisa de patógenos e outros microrganismos presentes em alimentos, tais como a *Salmonella* spp, são considerados métodos de triagem, na constatação de resultados positivos torna-se necessário confirmação pelos métodos convencionais. (3)

O VIDAS SLM é um teste qualitativo automatizado, que permite a detecção de antígenos de *Salmonella* spp em produtos alimentícios, pela técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo verificar a sensibilidade e especificidade de detecção de *Salmonella* spp pelo método automatizado mini-VIDAS – BIOMÉRIEUX.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar amostras em diferentes diluições;
- Realizar a comparação entre as cepas de *Salmonella Choleraesuis* e *Salmonella typhimurium* em relação à sensibilidade do método;

- Testar cepas de *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli* como interferentes na reação enzimática do equipamento juntamente com diferentes cepas de *Salmonella* spp.

Verificar a especificidade do método através da análise de cepas de *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli*;

- Analisar a existência de reações cruzadas entre cepas de *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e as cepas de *Salmonella Choleraesuis* e *Salmonella typhimurium*.

3. METODOLOGIA

3.1. Local de estudo

Laboratório Industrial Frigorífico – JBS localizado em Andradina- SP.

3.2 Cepas Padrões

As cepas utilizadas para este estudo são provenientes do cepario do Laboratório Industrial Frigorífico *Salmonella Choleraesuis* (ATCC10708), *Salmonella typhimurium* (ATCC14028), *Enterobacter aerogenes* (ATCC13048), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Stafilococcus aureus* (ATCC25923).

3.3 Equipamento

O teste foi realizado no equipamento mini-VIDAS BIOMÉRIEUX Versão R5 3.0

4. RESULTADOS

Após 45 minutos aproximadamente o equipamento encerra o teste emitindo os resultados. De acordo com os dados obtidos foi possível verificar que a metodologia mini-VIDAS empregada para a triagem do grupo *Salmonellas* spp, demonstrou-se eficaz para a detecção do seu microrganismo alvo, e demonstrou resultado negativo para *E.aerogenes*.

Resultados positivos foram obtidos nos testes 1, 2, 3, 4, 5 e 6. O mini-VIDAS foi capaz de identificar o microrganismo alvo mesmo em baixas concentrações.

Nos testes 4,5,6 onde microrganismos competidores foram adicionados na mesma proporção do patogenos alvo não houve resultados falso-negativos. O aparecimento de resultados falso-positivos ou falso-negativos tem sido relatado como um problema por todos os métodos, que não o convencional, (4).

No teste 7 o inóculo foi representado apenas pela bactéria *E.aerogenes*. O resultado obtido foi negativo, os grupos *Salmonella* spp e a *E.aerogenes* são pertencentes à mesma Família Enterobacteriaceae, portanto partilham de algumas semelhanças, mesmo nessas circunstâncias o equipamento demonstrou a especificidade na qual se propõe.

Tabela 1: Resultados obtidos através da leitura realizada no equipamento mini-VIDAS.

Tipo de Amostra	Quant. Total de (ul)	Tipo(s) de Inoculo(s)	Resultados
Teste 1	100	<i>S. typhimurim</i>	Positivo
Teste 2	100	<i>S. Choleraesuis</i>	Positivo
Teste 3	200	<i>S. typhimurim</i> e <i>S. Choleraesuis</i>	Positivo
Teste 4	200	<i>S. typhimurim</i> e <i>E.aerogenes</i>	Positivo
Teste 5	200	<i>S. typhimurim</i> e <i>S. aureus</i>	Positivo
Teste 6	200	<i>S. typhimurim</i> e <i>E.coli</i>	Positivo
Teste 7	100	<i>E.aerogenes</i>	Negativo

mini VIDAS Listagen
JBS S/A ANDRADINA
Seccão: A
Completo: 14:12 14/07/10
Téc.: IRACI
Salmonella (SLM)
Vers.: R5.3.0
Lot.: 120315-0
Std. utiliz.:
Completo: 10:06 24/08/11
RFV = 3440
VT Negativo < 0.23
VT Positivo >= 0.23

Posição: A1
ID amostra: TESTE1
Branco: 107 RFV: 12152
VT: 3.53 Resultado: **Positivo**

Posição: A2
ID amostra: TESTE2
Branco: 107 RFV: 11281
VT: 3.27 Resultado: **Positivo**

Posição: A3
ID amostra: TESTE3
Branco: 103 RFV: 12133
VT: 3.52 Resultado: **Positivo**

Posição: A4
ID amostra: TESTE4
Branco: 103 RFV: 11896
VT: 3.45 Resultado: **Positivo**

Posição: A5
ID amostra: TESTE5
Branco: 102 RFV: 11679
VT: 3.39 Resultado: **Positivo**

Posição: A6
ID amostra: TESTE6
Branco: 104 RFV: 11874
VT: 3.45 Resultado: **Positivo**

Figura 1: Resultado emitido pelo Equipamento mini-VIDAS

mini VIDAS Listagen
JBS S/A ANDRADINA
Seccão: B
Completo: 14:54 14/07/10
Téc.: IRACI
Salmonella (SLM)
Vers.: R5.3.0
Lot.: 120315-0
Std. utiliz.:
Completo: 10:06 24/08/11
RFV = 3440
VT Negativo < 0.23
VT Positivo >= 0.23

Posição: B1
ID amostra: TESTE7
Branco: 100 RFV: 211
VT: 0.06 Resultado: **Negativo**

Figura 2: Resultado emitido pelo Equipamento mini-VIDAS

5. CONCLUSÃO

Após a obtenção dos resultados pode-se concluir que o método mini-VIDAS BIOMÉRIEUS *Salmonella* demonstra sensibilidade à detecção de cepas de *Salmonella* spp e especificidade quando submetido a outros microrganismos que não o alvo.

BIBLIOGRAFIA

1. FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p.165
2. KAKU, M. et al. Surto alimentar por *Salmonella* Enteritidis no Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública** vol.29, n.2, pp. 127-131, 1995.
3. FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424 p.
4. BEUMER, R.R., BRINKMAN, E., ROMBOUTS, F.M. Enzyme-Linked immunoassays for the detection of *Salmonella* spp.: a comparison with other methods. **Int J Food Microbiol**, v.12, p.363-374, 1991.